

# 微生物学报

## ACTA MICROBIOLOGICA SINICA

期刊介绍

投稿须知

编委会

学科先贤

下载专区

常见问题

广告服务

友情链接

### 构建基于杆状病毒的BV-T7杂合表达体系及利用其在哺乳动物和禽类细胞中表达eGFP基因

### Construction of BV-T7 hybrid expression system based on baculovirus to express target gene eGFP in mammalian and chicken cells

投稿时间: 2011-9-28 最后修改时间: 2012-1-15

中文关键词: [关键词: 重组杆状病毒, T7 RNA 聚合酶/启动子, eGFP, OL细胞, 鸡胚原代细胞](#)

英文关键词: [Keywords: recombinant baculovirus T7 RNA polymerase/T7 promoter eGFP OL cells chike-embryo primary cells](#)

基金项目: 国家自然科学基金(31070446); 黑龙江省教育厅重点项目(11551z011); 科技创新人才研究专项资金项目优秀学科带头人(RC2010XK002028); 黑龙江大学高层次人才(创新团队)支持计划(Htdt2010-17); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511423)

作者 单位

E-mail

[葛菁萍](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

E-mail: [wenxiangp@yahoo.com.cn](mailto:wenxiangp@yahoo.com.cn)

[唐晓艳](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

[高冬妮](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

[宋姗姗](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

[鲁珊](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

[楼庄伟](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

[平文祥](#) [微生物黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江大学生命科学学院, 哈尔滨150080](#)

摘要点击次数: 41

全文下载次数: 22

中文摘要:

摘要: 【目的】研究重组杆状病毒BV-T7杂合表达体系能否有效转导禽类细胞并在禽类细胞中表达外源基因(eGFP), 从而构建能在禽类细胞中高效稳定表达外源基因的重组杆状病毒表达系统。【方法】本研究利用Bac-to-Bac杆状病毒表达系统, 结合T7 表达系统, 通过对eGFP 表达水平的调控来把握噬菌体T7 RNA聚合酶(T7 RNAP)的功能。利用两支重组杆状病毒, pFastBac-CMV-T7 RNAP 重组杆状病毒为哺乳动物细胞启动子CMV 调控的噬菌体T7 RNA 聚合酶的cDNA; pFB-T7pro-IRES-eGFP-T7ter 重组杆状病毒为T7 启动子控制的eGFP 报告基因。将两支重组杆状病毒共同侵染哺乳动物OL (oligodendrocyte)细胞、鸡胚成纤维细胞和鸡胚骨骼肌细胞。【结果】两支重组杆状病毒利用T7 启动子和T7 RNAP, 在OL 细胞、鸡胚成纤维细胞和鸡胚骨骼肌细胞中成功表达eGFP 报告基因, 而且未引起细胞病变, 但在鸡胚原代细胞中eGFP 的表达相对弱于在OL 细胞中的表达。在OL 细胞中重组杆状病毒对细胞的转导效率为59.5%, 在鸡胚成纤维细胞和鸡胚骨骼肌细胞中转导效率分别为23.2%和33.1%。【结论】本研究构建的基于杆状病毒、T7RNA 聚合酶、T7启动子(BV-T7)杂合表达体系能够在哺乳类细胞及禽类细胞中表达T7 RNAP, 并利用T7RNAP 继续高效而稳定地表达外源基因。这为难于体外操作的RNA 病毒提供了有效的研究方法, 并对新型基因工程疫苗的研制提供了一个高效而稳定的表达载体系统。

英文摘要:

Abstract: [Objective] To investigate whether the recombinant baculovirus BV-T7 hybrid expression system can be effectively transduced into chicken cells in vitro, and whether it can express the foreign genes (eGFP). [Method] We established a hybrid baculovirus-T7 RNA polymerase system for transient expression in mammalian cells and chicken cells. Two recombinant baculoviruses were constructed, one carrying cDNA of bacteriophage T7 RNA polymerase, with a nuclear localization signal, under the control of a mammalian promoter and the other expressing eGFP gene under the control of T7 promoter. The constructed recombinant baculoviruses co-infected mammalian oligodendrocyte cells, as well as chicken embryo fibroblasts cells and chicken embryo skeletal muscle cells. [Results] The eGFP activity was detected in mammalian cell lines and embryo fibroblasts cells and chicken embryo skeletal muscle cells. The recombinant baculovirus transduction efficiency of oligodendrocyte cells was 59.5%, and in CEF cells and myoblast cells the transduction efficiencies were 23.2% and 33.1%. [Conclusion] BV-T7 hybrid expression could be expressed T7 RNAP in mammalian cells and avian cells.

葛菁萍, 唐晓艳, 高冬妮, 宋姗姗, 鲁珊, 楼庄伟, 平文祥. 构建基于杆状病毒的BV-T7杂合表达体系及利用其在哺乳动物和禽类细胞中表达eGFP基因.

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)

地址: 北京朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物所内 邮编: 100101  
收信(款)人: 《微生物学报》编辑部  
电话: 010-64807516 传真: 010-64807327 电子信箱: [actamicro@im.ac.cn](mailto:actamicro@im.ac.cn)

本刊全文数据库版权所有, 未经许可, 转载、链接及印刷或制作光盘都属违法, 本刊将保留追究法律责任的权利